MANUAL DE INSTRUCCIONES

REDIAR®

REDIAR® Microplate Anti-A; REDIAR® Microplate Anti-B; REDIAR® Microplate Anti-A,B.

Suero Hemoagrupador Monoclonal Murino IgM.

Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN

La determinación del grupo sanguíneo ABO generalmente se realiza analizando los glóbulos rojos con antisueros anti-A y anti-B. A fin de obtener una información confirmatoria acerca del grupo sanguíneo y excluir la posibilidad de informar erróneamente como grupo O a variantes débiles del A (como Ax), muchos laboratorios también realizan la prueba con un reactivo anti-A,B. La determinación del grupo sanguíneo mediante la prueba inversa, llevada a cabo en el suero del paciente con células A1 y B (adicionalmente también se pueden incluir células A2), debería realizarse a fin de proporcionar una ulterior confirmación de los resultados observados en la determinación del grupo ABO.

PRESENTACIÓN

1 envase x 10 ml
5 envases x 2 ml

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO

Los reactivos REDIAR Microplate Anti-A, REDIAR Microplate Anti-B y REDIAR Microplate Anti-A,B están destinados a la determinación in vitro del grupo sanguíneo ABO en el humano por aglutinación directa empleando la técnica en microplaca.
El reactivo Anti-A es capaz de detectar los subgrupos significativos del A, incluyendo A1 ,A2, A3 y también aglutina la mayoría de las muestras Ax.
El reactivo Anti-B derivado de la línea celular LB-2 no reconoce el antígeno "pseudo B". El fenotipo B adquirido es hallado muy ocasionalmente en pacientes del grupo A y es causado por la deacetilación del antígeno A por enzimas bacterianas, particularmente aquellas asociadas a infecciones intestinales.
El reactivo Anti-A,B es capaz de detectar con mayor intensidad los subgrupos débiles de A y B.
Estos reactivos han sido diseñados para ser utilizados por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO

Los principales componentes de estos reactivos son derivados de cultivos in vitro de hibridomas murinos secretores de anticuerpos IgM:

Nombre del producto	Línea(s) celular(es)
REDIAR Microplate Anti-A	BIRMA-1
REDIAR Microplate Anti-B	LB-2
REDIAR Microplate Anti-A,B	ES-4/ES-15

Estos reactivos están formulados con anticuerpos monoclonales murinos tipo IgM en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0.1% (w/v), material bovino y porcino. Estos productos se proveen esterilizados por filtración a 0.22 µm.
El reactivo Anti-A está coloreado con Patent Blue Violet y el reactivo Anti-B está coloreado con Quinoline Yellow C.I 47005.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Estos reactivos deben ser conservados entre 2-8°C. No debe utilizarse si se observa turbidez y no deben diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.
El almacenamiento de los productos a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad de los reactivos.

PRECAUCIONES PARA EL USO Y LA ELIMINACIÓN

Las líneas celulares utilizadas para producir estos reactivos son de origen murino y han sido ensayadas y encontradas no reactivas para virus MAP (Mouse Antibody Production). Se debe tener cuidado en el uso y descarte del envase y su contenido.
Estos reactivos contienen 0,1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías.
Estos reactivos son para uso profesional in vitro solamente.
Estos reactivos contienen material bovino y porcino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs).
Estos productos deben ser descartados por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis grosera no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad. Muestras de neonatos obtenidas de cordón pueden ser utilizadas como fuente de glóbulos rojos para preparar las suspensiones.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

INFORMACIÓN GENERAL
Estos reactivos han sido estandarizados para el uso mediante la técnica recomendada descripta a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si estos reactivos son adecuados antes de utilizarlos en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos

- REDIAR LISS Preservante
- Microplacas REDIAR fondo en U
- Cobertor de microplacas autoadhesivo
- Agitador Orbital REDIAR
- Pipeta multicanal REDIAR
- Espejo amplificador
- Centrífuga REDIAR
- Cronómetro

TÉCNICA RECOMENDADA

- Suspender los glóbulos rojos al 2% en REDIAR LISS Preservante.
- Agregar 20 µl de cada reactivo hemoagrupador ABO en las microcubetas correspondientes.
- Agregar 20 µl de la suspensión de glóbulos rojos.
- Colocar el cobertor.
- Homogeneizar.
- Incubar a temperatura ambiente durante 15-20 minutos.
- Centrifugar (parámetro predeterminado).
- Agitar la microplaca en velocidad 2-3.
- Observar macroscópicamente la presencia / ausencia de aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

A continuación se muestran los patrones de reacción de los fenotipos ABO más comunes:

Prueba Directa			GRUPO
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	
0	0	0	O
+	0	+	A
0	+	+	B
+	+	+	AB

LIMITACIONES

Todos los resultados obtenidos en las pruebas sobre glóbulos rojos (directas), excepto las realizadas sobre muestras de sangre de infantes, deberían ser confirmadas por una prueba sobre suero (inversa), usando glóbulos rojos conocidos como A1, A2, B y O. Cualquier discrepancia entre las pruebas en glóbulos y en suero debe ser investigada y resuelta antes de informar el grupo sanguíneo.
Los antígenos ABO no se encuentran completamente expresados al momento del nacimiento; por lo tanto, las pruebas que involucran glóbulos rojos de cordón o neonatales deben ser interpretadas con particular cuidado.
No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando este reactivo. Se recomienda el uso de un reactivo control durante el agrupamiento de glóbulos rojos de pacientes/donantes que posean autoanticuerpos, glóbulos rojos que posean una prueba anti-globulínica positiva, niveles anormales de proteínas y glóbulos rojos de cordón.
Si se obtiene una reacción positiva con la muestra de glóbulos rojos de cordón y el reactivo control, se considerarán inválidos los ensayos de esa muestra. Esto puede indicar la necesidad de lavado de los glóbulos rojos antes de realizar la suspensión.
Se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular de la microcubeta. Una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso negativos.
Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anticoaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas.
Pueden obtenerse resultados falso negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión de reactivos de la prueba o ciertas patologías.
Los anticuerpos monoclonales muestran un alto grado de potencia, avidez y especificidad. Cuando se utilizan este tipo de anticuerpos, se debe prestar especial atención a fin de evitar las contaminaciones cruzadas.

SÍMBOLOS

Establecimiento Elaborador
Consultar el Manual de Instrucciones
Fecha de Vencimiento
IVD Producto para diagnóstico de uso in vitro
LOT Número de Lote
2°C 8°C Almacenar entre 2°– 8°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Moore, S. et al. Vox. Sang. 47: 427-434 (1984). A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A,(B) Specificity which Agglutinates Ax Cells.
2. Mc Donald, D.F. and Thompson, J.M. Vox. Sang. 1991;61:53-58. a New Monoclonal Anti-A Antibody BIRMA-1
3. Issit, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition, Montgomery Scientific Publications, 1998, Chapter 12.
4. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man 6 th Edition Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975:178.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition 2001, The Stationary Box.

PRODUCTO DE DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado N°: 6250/08.


FELSAN

ELABORADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBG), C.A.B.A., Argentina.
Director Técnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas Técnicas: 4554-7990/8557. Mail: laboratorio@felsan.com.ar